

## ⑯ 公開特許公報 (A) 平3-49676

⑮ Int.Cl.<sup>5</sup>

C 12 M	1/34
// C 12 M	1/32
G 01 N	35/02

識別記号

庁内整理番号

B	8717-4B
	8717-4B
Z	7403-2G

⑯ 公開 平成3年(1991)3月4日

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全14頁)

⑰ 発明の名称 M I C 及び生菌数の測定自動化装置および自動測定方法

⑱ 特願 平1-185662

⑲ 出願 平1(1989)7月18日

⑳ 発明者 前田 英昭 兵庫県宝塚市中筋1丁目12番9号

㉑ 発明者 岩日 朋幸 大阪府吹田市山田東1丁目31番B-407号

㉒ 出願人 武田薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町2丁目3番6号

㉓ 代理人 弁理士 青山 蔦 外2名

## 明細書

## 1. 発明の名称

M I C 及び生菌数の測定自動化装置および

自動測定方法

## 2. 特許請求の範囲

1. 検体の希釈装置と、シャーレへの希釈検体液の分注装置と、シャーレへの寒天培地の分注装置と、希釈検体液と寒天培地との混合搅拌装置と、寒天平板とするために寒天培地を冷却する装置と、寒天平板への接種装置、接種後の寒天培地の培養装置、培養後の自動判定装置を連続して設けると共に、上記シャーレに対して作用する上記各装置へシャーレを順次搬送する搬送装置を設け、上記各装置を自動制御して、検体の希釈分注、該希釈検体液のシャーレへの分注、寒天培地のシャーレへの分注、該希釈検体液と寒天培地との混合搅拌、冷却による寒天平板の作製、寒天平板への被検菌液または希釈検体液の接種、接種後の培養、培養後の自動判定の工程を自動的に行い得るようにし、かつ、M I C測定系と生菌数測定系に応じて上記

工程を選択して組み合わせて連続的に行い得る構成としているM I Cおよび生菌数の測定自動化装置。

2. 上記検体希釈装置は、検体試験管より検体を吸液して希釈試験管へ分注すると共に希釈検体液を吸液・分注して所要倍数希釈作用するマイクロ・ビペットと、該マイクロ・ビペットをX、Y、Z方向へ移動するロボットと、上記マイクロ・ビペットに使用毎にチップを取り替えて装着すると共に使用済みのチップを取り外す機構と、検体を注入している試験管を並設したラックを移動して順次検体を吸液位置へ移動させる機構と、希釈用試験管を並設したラックを移動して順次検体分注位置へ移動させる機構とを備え、かつ、

上記希釈検体液をシャーレへ分注する装置は、希釈検体液を試験管より吸液してコンベヤ上のシャーレへ分注するマイクロ・ビペットと、該マイクロ・ビペットをX、Y、Z方向へ移動するロボットと、上記マイクロ・ビペットに使用毎にチップを取り替えて装着すると共に使用済みのチップを

取り外す機構を備えていることを特徴とする請求項1記載の装置。

3. ロボットによりX、Y、Z方向に自動的に移動されるマイクロビペットにより、検体注入試験管より検体を吸液して、希釈液が注入されている試験管に吐出して1回目の希釈を行い、

ついで、上記マイクロ・ビペットの作用で上記した希釈検体液を更に希釈液で所要倍数まで希釈し、

所要倍数まで希釈した希釈検体液を、ロボットによりX、Y、Z方向に自動的に移動されるマイクロ・ビペットで、コンベヤにより順次搬送されてくるシャーレに分注し、

上記希釈検体液が分注されているシャーレに、コンベヤの移動に応じて、コンベヤ上に設置している培地分注装置より、所要量の寒天培地を分注し、

上記希釈検体液と寒天培地が分注された後に、コンベヤの下部に設置している回転円板によりシャーレを回転して希釈検体液と寒天培地とを混合攪拌

作製し、

上記作製された寒天平板の表面に、自動的に作動されるマイクロ・ビペットで希釈検体液を吸液、滴下した後、寒天平板の表面に均一に展延し、

その後、インキュベーター・プール内に搬入して、所定温度で所定時間保持して培養し、

培養後に、カメラで培養状態を撮影し、その映像を画像処理用コンピュータに出力して解析して判定し、

上記一連の工程をコンピュータ制御により自動的に連続的に行うことを特徴とするスプレッド法による生菌数の自動測定方法。

5. コンベヤ上に載置したシャーレに対して、所定位置で、希釈検体液を分注し、

ついで、コンベヤ上に設置している培地分注装置より寒天培地を分注し、

上記希釈検体液と寒天培地が分注された後に、コンベヤの下部に設置している回転円板によりシャーレを回転して希釈検体液と寒天培地とを混合攪拌し、

拌し、

上記混合攪拌後に、コンベヤ上に設置している冷却フード内を挿通させて、冷却により固化して寒天平板を作製し、

上記作製された寒天平板の表面に、自動的に作動される接種棒により所定間隔をあけて被検菌を接種し、

ついで、インキュベーター・プール内に搬入して、所定温度で所定時間培養し、

培養後に、カメラで培養状態を撮影し、その映像を画像処理用コンピュータに出力して解析して判定し、かつ、

上記一連の工程をコンピュータ制御により自動的に連続的に行うことを特徴とするM I C自動測定方法。

4. コンベヤ上に載置したシャーレに対して、所定位置で、コンベヤ上に設置している培地分注装置より、所要量の寒天培地を分注し、

ついで、コンベヤ上に設置している冷却フード内を挿通させて、冷却により固化して寒天平板を

上記混合攪拌後に、コンベヤ上に設置している冷却フード内を挿通させて、冷却により固化して寒天平板を作製し、

その後、インキュベーター・プール内に搬入して、所定温度で所定時間保持して培養し、

培養後に、カメラで培養状態を撮影し、その映像を画像処理用コンピュータに出力して解析して判定し、

上記一連の工程をコンピュータ制御により自動的に連続的に行うことを特徴とする混希法による生菌数の自動測定方法。

### 3. 発明の詳細な説明

#### 産業上の利用分野

本発明は、M I C(最小発育阻止濃度)及び生菌数測定自動化装置及び自動測定方法に関し、詳しくは、抗菌剤からなる検体の希釈液を寒天培地と混合して寒天平板を作製し、該寒天平板に被検菌を接種して培養判定するM I C測定系および、寒天培地に細菌浮遊液からなる検体の希釈液を展延接種あるいは混釀して培養判定する生菌数測定系

の自動化を図るものである。

#### 従来の技術

上記したM I C測定は、多数の病原細菌に対する各種の抗菌剤の抗菌活性を同一条件下で比較するため確立された測定系で、抗菌剤に関する基礎、臨床の領域で汎用されていると共に、スクリーニングおよび薬効評価にも使用されている。

該M I C測定系における作業工程は、検体(抗菌剤)の秤量取出→ビベッティングによる検体の希釈→希釈検体液の寒天培地への分注→混合攪拌→冷却による検体含有寒天平板の作製→該寒天平板への被検菌液接種→培養→判定からなる。

一方、上記生菌数測定系の作業工程は、M I C測定系とほぼ同様な工程からなり、寒天平板の作製→該寒天平板への検体(細菌浮遊液)の希釈液の接種あるいは混釀→培養→判定からなる。

#### 発明が解決しようとする課題

上記したM I C測定系の一連の作業工程は、従来、全工程とも作業員の手作業で行われており、そのため、測定作業が非能率となると共に、測定

して作用する上記各装置へシャーレを順次搬送する搬送装置を設け、上記各装置を自動制御して、検体の希釈分注、該希釈検体液のシャーレへの分注、寒天培地のシャーレへの分注、該希釈検体と寒天培地との混合攪拌、冷却による寒天平板の作製、寒天平板への被検菌液または検体の希釈液の接種、接種後の培養、培養後の自動判定の工程を自動的に行い得るようにし、かつ、M I C測定系と生菌数測定系に応じて上記工程を選択して組み合わせて連続的に行い得る構成としているM I Cおよび生菌数の測定自動化装置を提供するものである。

詳しくは、上記した検体希釈装置は、検体試験管より検体を吸液して希釈試験管へ分注すると共に検体の希釈液(以下希釈検体液ということもある)を吸液・分注して所要倍数希釈作用するマイクロ・ビベットと、該マイクロ・ビベットをX、Y、Z方向へ移動するロボットと、上記マイクロ・ビベットに使用毎にチップを取り替えて装着すると共に使用済みのチップを取り外す機構と、検

データの客觀性に問題があった。また、生菌数測定作業もM I C測定作業とほぼ同様で、コロニー計測以外は手作業で行なわれ、よって同様に、作業能率等に問題があった。

従って、本発明は、従来、手作業で行なわれていたM I C測定および生菌数測定を行う場合に、全作業工程を連続的に自動化して行なうことが出来るようにすると共に、いずれの測定を行う場合にも必要工程を選択的に組み合わせることにより両方の測定に利用できる測定自動化装置及び自動測定方法を提供することを目的とするものである。

#### 課題を解決するための手段

上記目的を達成するため、本発明は、抗菌剤または細菌浮遊液からなる検体の希釈装置と、シャーレへの希釈検体液の分注装置と、シャーレへの寒天培地の分注装置と、検体の希釈液と寒天培地との混合攪拌装置と、寒天平板とするために寒天培地を冷却する装置と、寒天平板への接種装置、接種後の寒天培地の培養装置、培養後の自動判定装置を連続して設けると共に、上記シャーレに対

して作用する上記各装置へシャーレを順次搬送する搬送装置を設け、上記各装置を自動制御して、検体の希釈分注、該希釈検体液のシャーレへの分注、寒天培地のシャーレへの分注、該希釈検体と寒天培地との混合攪拌、冷却による寒天平板の作製、寒天平板への被検菌液または検体の希釈液の接種、接種後の培養、培養後の自動判定の工程を自動的に行い得るようにし、かつ、M I C測定系と生菌数測定系に応じて上記工程を選択して組み合わせて連続的に行い得る構成としているM I Cおよび生菌数の測定自動化装置を提供するものである。

詳しく述べると、上記した検体希釈装置は、検体試験管より検体を吸液して希釈試験管へ分注すると共に検体の希釈液(以下希釈検体液ということもある)を吸液・分注して所要倍数希釈作用するマイクロ・ビベットと、該マイクロ・ビベットをX、Y、Z方向へ移動するロボットと、上記マイクロ・ビベットに使用毎にチップを取り替えて装着すると共に使用済みのチップを取り外す機構を備えていることを特徴としている。

上記シャーレへの寒天培地分注装置は、シャーレの上方に位置した培地分注ノズルを備えると共に、該ノズルに接続した管の上部に上下作動する押え板を備え、該押え板を管で押圧することにより所定量の培地をシャーレへ供給する構成としている。

上記シャーレへ分注した希釈検体液と培地との混合攪拌装置は、コンベヤの下部に配置した回転

駆動機構で回転板を回転させ、該回転板に連動してシャーレを回転させる構成としている。

上記冷却装置はコンベヤ上に冷却フードをかぶせ、該冷却フード内に冷風を導入し、該冷却フード内を搬送する寒天培地を固化乾燥して寒天平板を作製する構成としている。

上記寒天平板への接種装置として、被検菌液が分注されているミクロプランタと、該ミクロプランタに設けた被検菌液分注穴と同数の接種棒を円形支持板に垂設した接種具と、該接種具を移動してミクロプランタより被検菌液を採取して寒天平板の表面に滴下する移動する手段を備えたM I C測定用の接種装置を設けている。

さらに、上記接種装置として、細菌浮遊液からなる検体の希釈液を寒天平板の表面に滴下するマイクロ・ビペット、滴下した希釈検体液を寒天平板の表面に展延するヘラ板とを備えたスプレッド法による生菌数測定用に用いる接種装置を設けている。

上記培養装置として、接種された寒天平板を備

コンベヤの移動に応じて、コンベヤ上に設置している培地分注装置より、所要量の寒天培地を分注し、

上記希釈検体液と寒天培地が分注された後に、コンベヤの下部に設置している回転円板によりシャーレを回転して希釈検体液と寒天培地とを混合搅拌し、

上記混合搅拌後に、コンベヤ上に設置している冷却フード内を押通させて、冷却により固化して寒天平板を作製し、

上記作製された寒天平板の表面に、自動的に作動される接種棒により所定間隔をあけて被検菌を接種し、

接種後に、シャーレに蓋を閉め、

ついで、所定時間、所定温度で保持して培養するインキュベーター・プール内へ搬入し、

培養後に、蓋空けを行った後に、カメラで培養状態を撮影し、その映像を画像処理用コンピュータに出力して解析して判定し、

上記一連の工程をコンピュータ制御により自動

えているシャーレを搬入して、ラック内に積層し、所定温度で、所定時間培養するインキュベーター・プールが用いられる。

上記培養後の測定装置は、寒天表面を撮影するCCDカメラ、該カメラからの映像を解析する画像処理コンピュータ、該コンピュータの判定結果を打ち出すプリンタとを備えている。

さらに、本発明は、検体を注入している試験管から検体を、ロボットによりX、Y、Z方向に自動的に移動されるマイクロ・ビペットにより吸液して、希釈液が注入されている試験管に吐出し、1回目の希釈を行い、

ついで、上記マイクロ・ビペットの作用で上記した希釈検体液を更に希釈液で所要倍数まで希釈し、

所要倍数まで希釈した希釈検体液を、ロボットによりX、Y、Z方向に自動的に移動されるマイクロ・ビペットで、コンベヤにより順次搬送されてくるシャーレに分注し、

上記希釈検体液が分注されているシャーレに、

的に連続的に行うことの特徴とするM I Cの自動測定方法を提供するものである。

さらにまた、本発明は、コンベヤ上に載置したシャーレに対して、所定位置で、コンベヤ上に設置している培地分注装置より、所要量の寒天培地を分注し、

その後、コンベヤ上に設置している冷却フード内を押通させて、冷却により固化して寒天平板を作製し、

上記作製された寒天平板の表面に、自動的に作動されるマイクロ・ビペットで細菌浮遊液からなる検体の希釈液を吸液、滴下した後、寒天平板の表面に均一に展延し、

上記接種後に、シャーレに蓋を閉め、

ついで、所定時間、所定温度で保持して培養するインキュベーター・プール内へ搬入し、

培養後に、蓋空けを行った後に、カメラで培養状態を撮影し、その映像を画像処理用コンピュータに出力して解析して判定し、

上記一連の工程をコンピュータ制御により自動

的に連続的に行うことを特徴とするスプレッド法による生菌数の自動測定方法を提供するものである。

さらにまた、本発明は、コンベヤ上に載置したシャーレに対して、所定位置で、希釈検体液を分注し、

ついで、コンベヤ上に設置している培地分注装置より、所要量の寒天培地を分注し、

その後、コンベヤの下部に設置している回転円板によりシャーレを回転して希釈検体液と寒天培地とを混合搅拌し、

その後、コンベヤ上に設置している冷却フード内を挿通させて、冷却により固化して寒天平板を作製し、

ついで、シャーレに蓋を閉めた後、

所定時間、所定温度で保持して培養するインキュベーター・ブール内へ搬入し、

培養後に、蓋空けを行った後に、カメラで培養状態を撮影し、その映像を画像処理用コンピュータに出力して解析して判定し、

第1図および第2図に示すように、本自動測定装置は、1つの基台1上に各装置を効率良く配置しており、図中、右端部に培養装置のインキュベーター・ブール2、対向する左端部に寒天平板作製用の空シャーレ・ラック・ブール3を設けている。上記両側のブール2と3の間の基台1上の後部側に、検体の希釈装置および、希釈検体液のシャーレ分注装置を配置している。即ち、右方向より左側にかけて空検体試験管ラック収納部4、検体試験管ラック収納部5、検体用チップ収納部兼チップ移動用ロボット設置部6、希釈試験管ラック収納部7、分注チップ収納部8、空希釈ラック収納部兼分注チップ移動用ロボット設置部9を順次設置している。これら各部4～9の前部側にはシャーレ搬送装置のコンベヤ11を配置し、シャーレ・ラック・ブール3から取り出された前後2列の空シャーレ10をインキュベーター・ブール2側へ図中矢印方向で搬送するようにしている。

上記した検体希釈装置および希釈検体液のシャーレ分注装置の各部について、以下に説明すると、

上記一連の工程をコンピュータ制御により自動的に連続的に行うことを特徴とする混釀法による生菌数の自動測定方法を提供するものである。

#### 作用

上記したように、本発明に係わる測定自動化装置によれば、M I C 測定作業において必要な全ての各作業工程を自動化した装置を並設し、かつ、これらの装置をコンピュータで自動制御しているため、全工程を連続して自動的に行うことが出来る。また、上記装置により混釀法およびスプレッド法による生菌数の測定作業も自動的に行うことが出来る。

#### 実施例

以下、本発明を図面に示す実施例により詳細に説明する。

本発明に係わるM I C 及び生菌数の自動測定装置は、一連の作業工程を順次行う各装置をブロック化して並設しており、M I C 測定工程で用いる機構の一部を利用して生菌数の測定を行うようにしている。

まず、検体試験管ラック収納部5は検体(抗菌剤)が注入されている複数の試験管12を横方向に並設する検体ラック13を設け、該検体ラック13を複数列前後方向に設置している。これら検体ラック13をX、Y方向に移動して、最前列右端の検体吸液用ビベッティング位置P<sub>1</sub>に検体試験管12を順次搬送するようにしている。該位置P<sub>1</sub>で検体が吸液されて空となった試験管12は順次右側の空検体ラック収納部4に間欠的に搬送される。上記ラック13の移動は図中矢印方向に沿って行なわれ、これらの移動はラック13の下側に設けている駆動機構(図示せず)によって行っている。

希釈試験管ラック収納部7は、上記検体試験管ラック収納部5と同様に、複数の希釈用試験管14を横方向に並設した希釈用ラック15を前後方向に複数列配置しており、該希釈用ラック15をX、Y方向に移動し、最前列の左端の検体吐出用ビベッティング位置P<sub>2</sub>に希釈試験管14を順次搬送するようにしている。該位置P<sub>2</sub>での希釈作用が終わった希釈用試験管14は空希釈ラック収納部9

へと左方向に移動される。該空希釈ラック収納部9の最前列右端の分注位置P<sub>1</sub>で希釈検体液をシャーレ10へ分注した後に、該空希釈ラック収納部9内で矢印方向に移動されて収納される。この希釈試験管用のラック15の移動も、上記検体試験管用のラック13と同様に、下部の駆動機構(図示せず)によって行っている。

検体用チップ収納部兼チップ移動用ロボット設置部6には、支持枠16に取り付けたエアーシリング17等によりX、Y、Z方向へ移動される検体用マイクロ・ビベット18を設置している。また、該マイクロ・ビベット18の先端に自動的に着脱される検体用チップ19を縦・横方向に並設している検体用チップテーブル20を設けている。該チップテーブル20を下部駆動機構(図示せず)でX、Y方向に移動して、取り替えるチップ19をマイクロ・ビベットへの装着位置P<sub>2</sub>に順次搬送している。さらに、前部側の位置P<sub>3</sub>には、マイクロ・ビベット18から使用済のチップ19を取り外すためのチップ取外用チャック機構21を

に検体液を注入するようにしている。該希釈液が分注された試験管14は、位置P<sub>4</sub>でマイクロ・ビベット18により検体が注入されて希釈検体液を調製し、さらに、該位置P<sub>4</sub>で希釈検体液を吸液し、次の希釈液を充填している試験管14に希釈検体液を注入し、これを所要回数繰り返すことにより、所要希釈倍数の希釈検体液を調製している。

分注チップ収納部8には、上記検体チップ収納部6と同様に、多数の取替用分注チップ26を着脱自在に装着している分注チップテーブル27を設置している。該チップテーブル27はX、Y方向へ移動され、分注チップ装着位置P<sub>5</sub>へ次に装着する分注チップ26を順次位置させるようにしている。

空希釈ラック収納部兼分注用チップ移動用ロボット設置部9には、上記検体用チップ移動用ロボット設置部6と同様に、エアーシリング28等によりなるロボットでX、Y、Z方向へ移動される分注用マイクロ・ビベット30を設置している。また、コンベヤ11を隔てた前方位置P<sub>6</sub>に使用済み

設置している。上記のようにマイクロ・ビベット18をエアーシリング等のロボットで第1図中に矢印で示すようにX、Y、Z方向に移動することにより、検体を希釈する際、まず、位置P<sub>1</sub>でマイクロ・ビベット18に新しいチップ19を装着し、その後、吸液位置P<sub>4</sub>で検体試験管12内より所定量の検体を秤量吸引し、ついで、希釈試験管ラック収納部7の位置P<sub>5</sub>で希釈試験管14に検体を吐出する。希釈試験管ラック収納部7での必要回数の希釈混合作業を終了した後、位置P<sub>6</sub>において取外用チャック機構21で使用済みのチップ19を取り外している。

上記希釈試験管ラック収納部7に収納している希釈用試験管14には、第3図に示すように、希釈液タンク22に充填している希釈液を、希釈液分注ポンプ23で管24を介して先端ノズル25より分注している。該希釈液分注位置P<sub>7</sub>は上記検体液吐出位置P<sub>4</sub>の右側に隣接した位置で、希釈液を分注した試験管14に検体液を注入するようしている。該希釈液が分注された試験管14

の分注チップ26をマイクロ・ビベット30より取り外すための取外用チャック31を設置している。上記ロボットでマイクロ・ビベット30をX、Y、Z方向へ移動することにより、所定の希釈倍率となった希釈検体液を、寒天平板作製のために空シャーレ10に分注する際、位置P<sub>8</sub>でマイクロ・ビベット30にチップ26を装着し、その後、位置P<sub>9</sub>で希釈試験管15より所定量の希釈検体液を吸引し、コンベヤ11で搬送されてくる前後2列シャーレ10A、10Bに位置P<sub>10</sub>で希釈検体液を分注し、その後、位置P<sub>11</sub>で使用済みのチップ26を取り外すようにしている。

シャーレ・ラック・ブル3には第4図に示すようにシャーレ10を上下積層状態で収納したラック32を設け、該ラック32を第1図に示すように2列づつ並設して矢印方向へ搬送しており、最前列右端の取出位置で1枚づつ取り出し、コンベヤ11上へ前後2列で搬出している。

上記シャーレを搬送するコンベヤ11に沿って、上流側より下流のインキュベーターブール2に向

て、上記希釈検体液の分注装置、寒天培地分注装置、希釈検体液と寒天培地の混合搅拌装置、冷却装置、接種装置を順次並設している。

即ち、シャーレ10A、10Bが移し替えられるコンベヤ11の上流端に近接した位置に、上記のマイクロ・ピペット30により希釈検体液をシャーレ10A、10Bに分注する分注位置P<sub>1</sub>が設けられている。この分注位置P<sub>1</sub>に隣接した下流位置P<sub>10</sub>には培地分注ノズル33A、33Bを設置し、シャーレ10A、10Bに培地が分注されるようにしている。該培地分注ノズル33A、33Bは、培地溜槽(図示せず)に接続した循環管34A、34Bより分岐した分岐管35A、35Bの先端に取り付けている。上記分岐管35A、35Bの夫々の上方には、押え弁36A、36Bを設置している。これら押え弁36A、36Bを下降して分岐管35A、35Bを押圧することにより、溶融寒天からなる培地を設定量だけ、各シャーレ10A、10Bに供給するようにしている。上記した培地溜槽、循環管等からなる培地分注装置40

検体液と寒天培地とが固化し、寒天平板46が作製されるようにしている。

上記冷却フード45より下流位置で、即ち、冷却フード45より出た寒天平板46の表面が乾燥した位置P<sub>11</sub>に、被検菌液を接種するための接種装置を設けている。該接種装置としてはMIC測定用の接種装置47Aとスプレッド法による生菌数測定用の接種装置47Bがあり、これら接種装置47A、47Bはいずれも可搬式で実施する測定に応じて、いずれかの接種装置を第1図に示すように基台1の前方に配置している。MIC測定用の接種装置47Aは第3図に示すように、作製する寒天平板と略同形の円形支持板50の下面に多數本(本実施例では27本)の接種棒51を所定間隔あけて垂設した接種具52を2個設け、これら接種具52をエアーシリング56を介して移動台53に取り付けている。また、上記接種棒51に対応した数の穴部54を対応位置に設けたミクロプランタ55を2個設けている。該ミクロプランタ55の穴部54には、夫々、例えば、

は、第1図中に2点鎖線で示すように、基台1の前方に可搬式で設置される。

上記培地分注位置P<sub>10</sub>に隣接した下流の位置P<sub>11</sub>には、シャーレ内に注入した希釈検体液と寒天培地との混合搅拌装置41を設置している。該混合搅拌装置41はコンベヤ11の下部に回転駆動機構43を設置し、該回転駆動機構43により回転される回転板44と連結した搅拌板42を設けている。該搅拌板42は搅拌混合時に上昇してシャーレ10の底面に当接し、回転駆動機構43により搅拌板42を回転することによりシャーレ10を図中央矢印方向へ回転し、シャーレ10内の希釈検体液と溶融寒天培地とを混合搅拌している。

上記混合搅拌位置P<sub>11</sub>に隣接した下流位置P<sub>12</sub>より検体試験管ラック収納部5の前部側の位置まで、コンベヤ11上に冷却フード45を設置して冷却装置を設けている。該冷却フード45の上端には冷却導入管48を接続し、冷却フード45内に無菌の冷却風を導入している。よって、該冷却フード45内を挿通する間に、上記混合した希釈

種類の相違する被検菌液を充填している。これら穴部54に接種棒51をエアーシリング56により下降して挿入し、被検菌液を吸液した後、コンベヤ11上に移動し、寒天平板46上に下降して、被検菌液を寒天平板46の表面に接種するようしている。このように、1つの寒天平板46に対して種類の相違する被検菌液を接種し、かつ、接種位置をマークしておくことを容易としている。

一方、スプレッド法による生菌数測定用の接種装置47Bは、第4図中に一点鎖線で囲む部分に示したように、検体(細菌浮遊液)の希釈液接種用のマイクロ・ピペット60を設け、該ピペット60で寒天平板46の表面に希釈検体液を滴下するようしている。該希釈検体液の滴下後、寒天平板46と略同一直径のヘラ板60を下降し、寒天平板46の表面に当接させている。該状態でシャーレ10の外周部に配置した回転ローラ62A、62Bを回転駆動することによりシャーレ10を矢印方向に一回転している。該作動によって、言わば、ヘラ板60が寒天平板46の表面全体に添っ

て搬移することとなり、寒天平板46上に滴下された希釈検体液は寒天平板の表面全体に略均一な厚さで展延塗布(所謂、スプレッド)されるようしている。

上記生菌数測定用に使用される希釀検体液は、第4図に示すように、上記した検体の希釀工程と同一の工程で被検菌を希釀している。よって、基台1の後部側に配設した検体の希釀装置を利用して希釀してもよく、あるいは、別途に設けた希釀装置により行ってもよい。

上記寒天平板46に被検菌を接種した後、シャーレ10の蓋65を取り付けて締結する機構(第1図中には図示せず)を設けている。

コンベヤ11の下流端は培養装置のインキュベーター・プール2に連続し、該インキュベーター・プール2において、蓋65が取り付けられたシャーレ10は矢印方向に搬送され、第4図に示すようにプール・ラック66内に上下方向に積層されて培養されるようしている。該インキュベーター・プール2内は温風を循環させて37℃等の所定

次に、上記測定自動化装置により、M I C測定作用を行う場合および混釀法あるいはスプレッド法による生菌数測定作用を行う場合について説明する。

まず、第5図に示すように、スタート時に、M I C測定か生菌数測定かを選択する。ついで、検体数を入力した後、希釀段数を入力し、準備の確認を行う。

M I C測定の場合は、第6図に示す流れに従った作用がなされ、抗菌剤となる検体A、B…を秤量後、一定濃度に溶解して段階希釀をおこなっている。該段階希釀は、上記装置において、検体試験管収納部5内の試験管12の一定濃度に溶解している検体を、検体吸液位置P1でマイクロ・ビペット18に装着したチップ19により吸液し、希釀試験管収納部7に設置している希釀試験管14に対して希釀位置P2で分注し、第1回希釀を行っている。該希釀位置P2において、希釀した希釀検体液を再度吸液した後、次の希釀液を充填した希釀試験管14に分注することにより、

温度に維持している。該インキュベーター・プール2内で20時間等の所定時間、培養した後に取り出し、蓋65を取り外すと共に、矢印方向に搬出するようしている。該搬出経路に測定用のCCDカメラ66を配置し、寒天平板の表面の培養状態を撮影するようしている。該CCDカメラ66を第4図に示すように、計測装置(画像処理コンピュータ)68と接続して映像信号を送り、それに基づいて計測し、計測した判定結果をプリンタ69より打ち出すようしている。このように、培養後にカメラ、計測装置等からなる自動測定装置により判定を行っている。

上記各装置の作動は、基台1とは別個に設けた操作卓75に設置しているコンピュータ制御装置で全自動制御で行っている。また、両側のインキュベーター・プール2と空シャーレ・ラック・プール3を除く基台1の上面全体に安全カバー70を設置して、外部と遮断している。さらに、インキュベーター・プール2には断熱カバー71を設置している。

所定の希釀倍数になるまで設定回数だけ繰り返す。上記希釀段階に於けるマイクロ・ビペット18の作動は、ロボット設置部7のエアーシリング17等の駆動機構がコンピュータに入力したプログラムに従って自動動作することにより行われる。該検体の希釀工程は第7図のフローチャートにおいて右側部に記載されているステップで進んでいる。

上記フローチャートに示す実施例では、M I C測定の場合、検体試験管12に5mLの検体を注入しており、マイクロ・ビペット18には5mL用のチップ19を装着し、1回の検体吸液量を2.5mLとしている。1回の希釀で2倍希釀を行い、最終的に16段の希釀を行っている。

上記所定倍数に希釀された希釀検体液は、希釀試験管ラック15が移動することにより希釀検体液分注位置P3において、マイクロ・ビペット30により希釀試験管14より所定量吸液されシャーレ10A、10Bに分注される。該マイクロ・ビペット30の作動は、上記マイクロ・ビペット18と同様に、ロボット設置部9のエアーシリン

ダ28等が自動制御されることにより、自動的に行われる。

シャーレ10(10A、10B)は第7図のフローチャートで左側に記載したステップに従ってプール・ラック32より取り出され、コンベヤ11上へ移し変えられ、矢印方向へ搬送される。分注位置P<sub>9</sub>でシャーレ10A、10Bに上記したように希釈検体液がマイクロ・ビペット30のチップ26より所定量分注される。尚、本実施例では、1mLの希釈検体液を各シャーレに分注している。

上記希釈検体液が分注されたシャーレ10A、10Bは培地分注位置P<sub>10</sub>で培地分注ノズル33A、33Bにより所定量の溶融した寒天培地が分注される。本実施例では9mLの培地を分注している。

ついで、コンベヤ11の移動に従って位置P<sub>11</sub>で、混合攪拌装置41によりシャーレが回転されることにより、内部に分注されている希釈検体液と寒天培地とが混合攪拌される。その後、コンベヤ11の移動に従って、位置P<sub>12</sub>より冷却フード

インキュベーター・プール2内において所要温度で所要時間(本実施例では37°Cで20時間)培養される。上記培養時間経過後、プール・ラック64より取り出され、蓋65が取り除かれた状態で搬出される。該搬出経路に設置したカメラ66で寒天平板の表面が撮影される。該カメラ66の映像データが計測装置68に出力されて、該装置で画像を解析することにより測定結果が出され、プリンタ69で測定結果が打ち出される。

次に、第8図に示すスプレッド法による生菌数の測定方法について説明する。

該生菌数の測定作業は上記MIC測定作業と略同様な工程からなり、該生菌数測定の場合は第7図のフローチャートに記載する検体として細菌浮遊液が用いられる。従って、上記MIC測定装置の検体希釈装置を用いて希釈する場合、細菌浮遊液からなる検体は検体試験管12に一定量として充填され、該検体はマイクロ・ビペット18により希釈試験管14へ分注され、さらに所要回数の希釈が繰り返されて設定倍数の希釈検体液が調製

45内に搬入され、所定時間冷却フード内を搬送されて寒天培地及び希釈検体液が冷却される。該冷却により、固化・乾燥することにより、抗菌剤含有の寒天平板46が作製される。

上記冷却フード45内から出た上記寒天平板46に対して、位置P<sub>13</sub>で接種装置47Aにより被検菌液が接種される。被検菌液は第4図および第6図に示すように、被検菌a、b…が植菌された後、菌液接種皿(ミクロプランタ55)に分注され、所要倍数希釈されたものである。該ミクロプランター55内の種類が相違した被検菌液は多数の接種棒51により夫々一度に吸液され、上記乾燥した寒天平板46の表面に所定間隔をあけて接種される。

上記接種後、コンベヤ11は下流端に達し、シャーレ10A、10Bはインキュベーター・プール2内に搬入される。該インキュベーター・プール2内において、蓋65で閉鎖された後に反転されて、プール・ラック64内に積層された状態で収納される。

される。第7図のフローチャートで示す実施例においては、検体試験管12内に2mLの検体が注入され、マイクロ・ビペット18に0.5mLのチップ19が装着され、該チップ19により検体試験管12から0.2mLの検体が吸液され、希釈試験管14に分注されている。希釈は1回で10倍に希釈され、該希釈は6段行われる。

尚、生菌数測定のための希釈工程は別の希釈装置で行い、希釈検体液を注入している試験管および該試験管より吸液して、後述するように、寒天平板の表面に滴下するマイクロ・ビペット60を備えた可搬式の装置を第1図に示す装置の接種位置まで移動する方法を用いることも出来る。

一方、シャーレ10に対して、寒天培地が培地分注ノズル33A、33Bから分注され(本実施例では9mL)、ついで、冷却フード45内を移動されて、寒天平板46が作製される。この寒天平板46の表面に接種位置P<sub>13</sub>で接種装置47Bのマイクロ・ビペット60で上記希釈検体液が滴下される(本実施例では0.1mL)。ついで、ヘラ板

6.1が寒天平板の表面に接触するまで下降された後、シャーレ10が回転され、希釈検体液が寒天平板4.6の表面全体に均一な厚さで展延される。この状態で、インキュベーター・プール2へ搬入される。該インキュベーター・プール2内では上記MIC測定の場合と同様に所要時間、所要温度で(実施例では20時間、37℃)培養され、培養後、カメラ6.6で撮影され、画像分析により判定結果が出される。

上記した生菌数測定方法はスプレッド方法による測定方法であるが、混釀法による生菌数測定では、上記MIC測定方法と同様に、シャーレ10内に先に細菌浮遊液の希釈検体液が分注され、ついで、寒天培地が分注され、これが混合攪拌された後、冷却フード4.5で被検菌含有の寒天平板が作製される。該寒天平板はインキュベーター・プール2内で培養され、その結果が測定される。

上記したように、本発明に係わる測定自動化装置においては、検体の希釈が任意の倍数で自動的に行われると共に、第4図に示すように、シャー

る。

#### 発明の効果

以上の説明より明らかなように、本発明に係わる測定自動化装置によれば、MIC測定作業で行われる一連の作業工程、即ち、検体の希釈、寒天平板の作製(シャーレへの検体および寒天培地の分注、混合攪拌、冷却)、菌液の希釈、菌液の接種、培養判定が全て自動的に連続して行うことが出来る。よって、全ての工程を手作業で行っていた従来と比較して作業効率を飛躍的に向上させることができる。また、自動的に行うために測定結果の信頼性が大幅に向かう利点を有する。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明に係わる測定自動化装置の平面図、第2図は第1図の正面図、第3図は第1図に示す装置の斜視図、第4図は作業工程を示す図面、第5図は作業開始時のフローチャート、第6図はMIC測定作業の流れを示す図面、第7図はMIC測定および生菌数測定の工程を示すフローチャート、第8図は生菌数測定作業の流れを示す図面

レに対する下記の一連の作業工程。

シャーレ・ラック・プール3からのシャーレ10の取り出し→該シャーレ10に対する検体液の分注→シャーレへの培地の分注→混合攪拌→冷却→接種→接種菌の展延→シャーレの蓋閉め→インキュベーター・プール2への搬入→反転収納培养→取り出し→計測判定

を適宜に選択して、自動的に連続して行うことが出来る。

即ち、上記作用の説明で記載したように、第4図中に(I)で示すシャーレへの検体液の分注、(II)で示すシャーレへの培地分注、(III)で示す検体液の分注およびスプレッドによる展延、(IV)で示す接種棒による接種の工程が、下記に示すように、測定系に応じて適宜に組み合わせて用いられる。

MIC測定…(I)(II)(IV)

スプレッド法による生菌数測定…(II)(III)

混釀法による生菌数測定…(I)(II)

よって、同一の測定装置により、MIC測定および生菌数測定を任意に選択して行うことが出来

である。

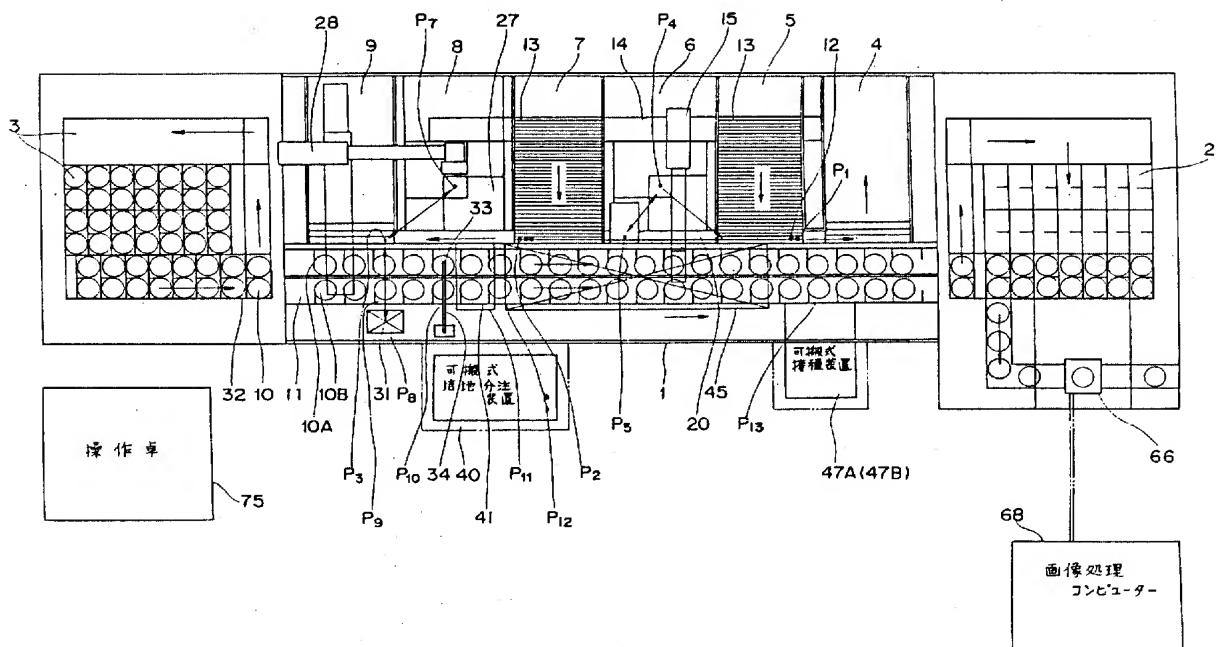
- 1. 基台、2. インキュベーター・プール。
- 3. シャーレ・ラック・プール、
- 5. 検体試験管ラック収納部、
- 6. 検体用チップ収納部兼チップ移動用ロボット設置部、
- 8. 希釀試験管ラック収納部、
- 9. 希釀空ラック収納部兼分注チップ移動用ロボット設置部、
- 10.(10A、10B) シャーレ、
- 11. コンベヤ、
- 12. 検体試験管、14. 希釀試験管、
- 18. マイクロ・ピペット、
- 19. 検体用チップ、22. 希釀液タンク、
- 25. 希釀液分注ノズル、
- 26. 分注用チップ、
- 30. マイクロ・ピペット、
- 33A、33B. 培地分注ノズル、
- 36A、36B. 押え弁、
- 40. 培地分注装置、41. 混合攪拌装置、

45···冷却フード、 46···寒天平板、  
 47(47A、47B)···接種装置、  
 51···接種棒、 55···マイクロプランタ、  
 60···マイクロ・ビペット、 61···ヘラ板、  
 65···蓋、 66···カメラ、  
 68···計測装置、 69···プリンタ、  
 70···安全カバー。

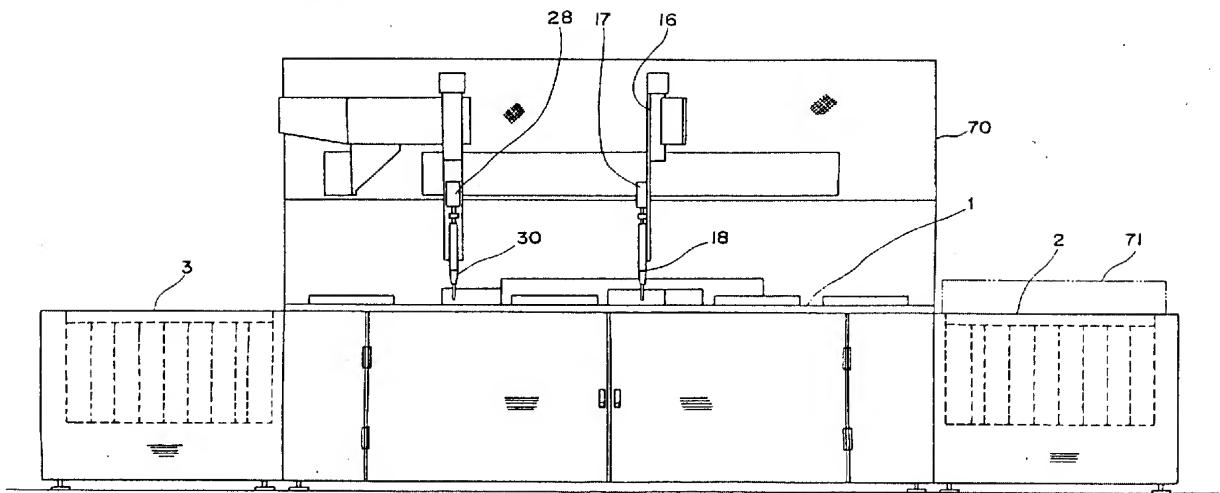
特許出願人 武田薬品工業株式会社

代理人弁理士 青山深ほか2名

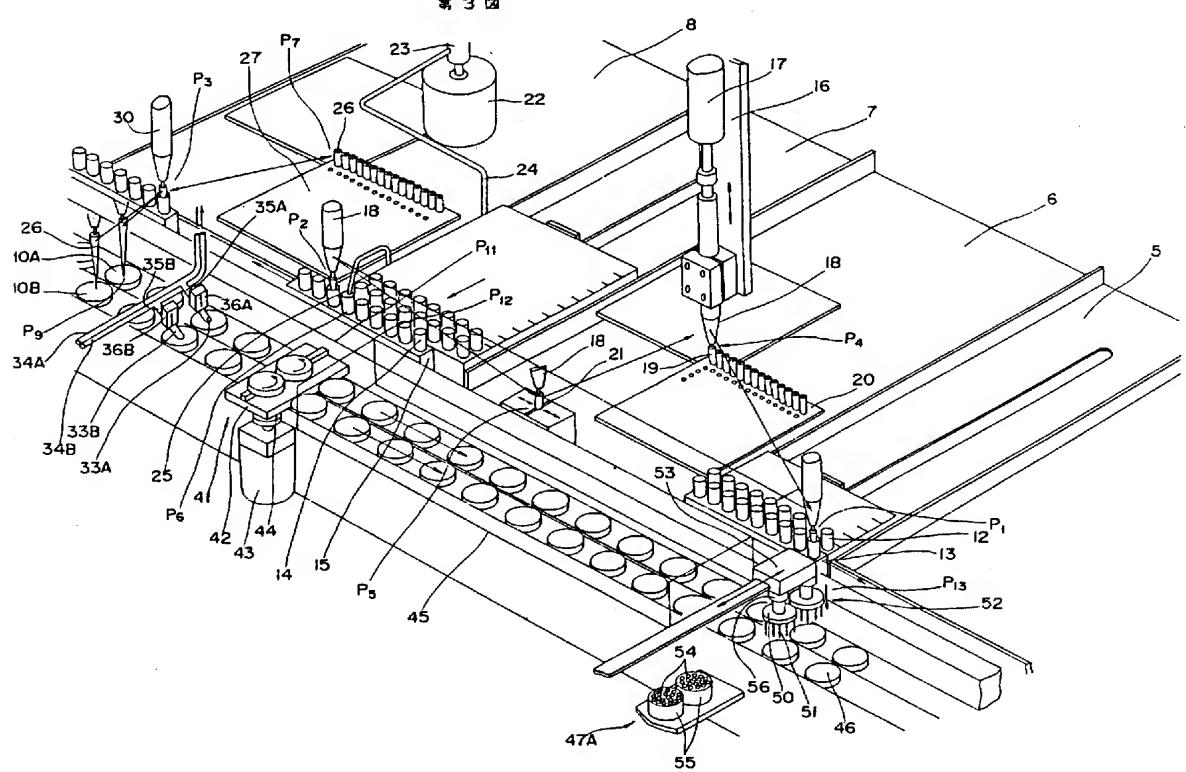
第1図



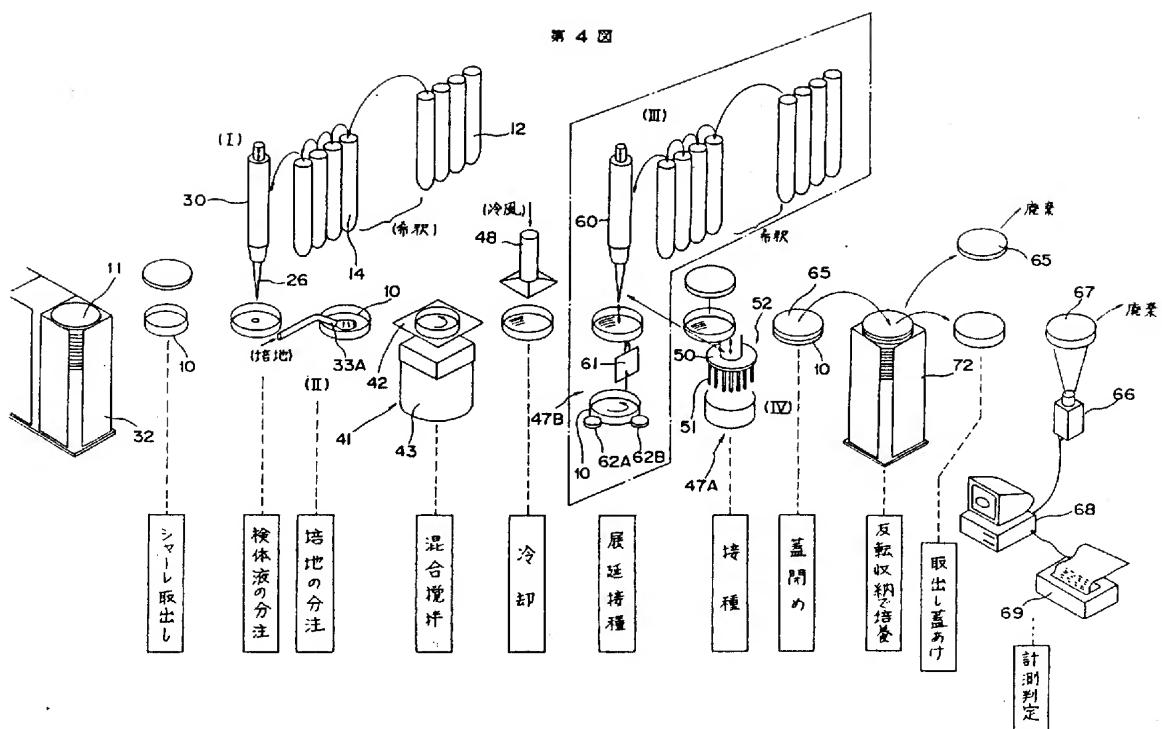
第2図



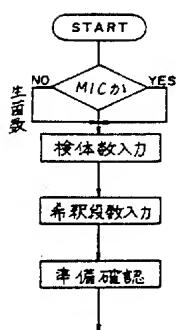
第3図



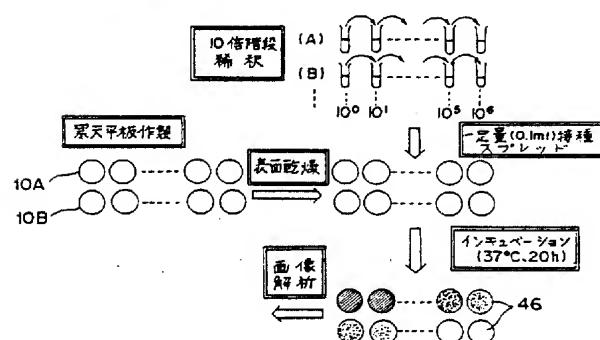
第4図



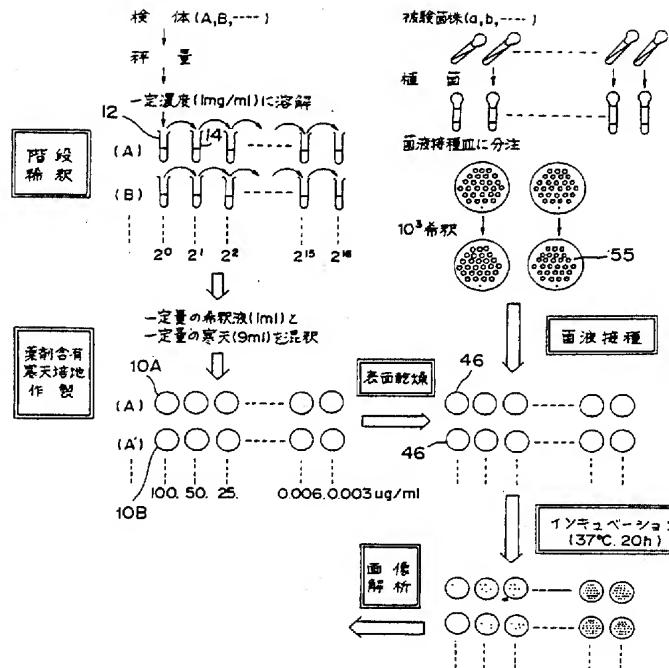
第5図



第8図



第6回



第7回

